

The spatiotemporal localization pattern of progenitors and their progenies in the developing hippocampal formation

著者	杉山 拓
号	83
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3247号
URL	http://hdl.handle.net/10097/57939

氏 名	すぎやま たく 杉山 拓
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 26 年 3 月 26 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	The spatiotemporal localization pattern of progenitors and their progenies in the developing hippocampal formation (神経前駆細胞と神経細胞の分布から示唆される海馬体形態形成機構)
論文審査委員	主査 教授 大隅 典子 教授 八尾 寛 教授 森 悦朗

論文内容要旨

研究目的

海馬体はアンモン角と歯状回から構成され、記憶と学習、さらには情動機能にも関与する。海馬体の各領域内の主要細胞である海馬錐体細胞(HPC)と歯状回顆粒細胞(DGC)は、それぞれ胎生期終脳内側部の歯状回神経上皮 (DNE)と海馬神経上皮(HNE)に由来し、HNE は DNE の腹側に隣接していると考えられている。大部分の中樞神経系において神経細胞の産生は胎生期に完了するが、DGC 産生は主に生後であり、さらに歯状回は生涯にわたって新たな DGC を生み出す能力 (成体神経新生) を有している。これまでに多くの研究によって、成体神経新生の分子機構や神経回路内での役割、記憶・学習への関与が精力的に研究されてきた。しかしながら、成体神経幹細胞の発生起源はほとんど明らかにされていない。また DGC と HPC が異なる性質をもった神経細胞に分化していく過程も不明である。本研究は、これら海馬体を構成する細胞とその前駆細胞の局在を調べる事によって海馬体の形態形成過程を明らかにする事を目的としている。

実験方法

大脳皮質興奮性神経細胞は Pax6/Sox2→Tbr2→NeuroD といたった転写制御因子の発現カスケードを示し分化する。本研究では、これら転写制御因子を免疫組織学的手法によって検出し、HPC と DGC の分化過程とその局在を海馬体形態形成において観察した。DGC と HPC 細胞系譜は、それぞれ Prox1 と Math2 の発現によって同定した。免疫染色の蛍光画像は共焦点顕微鏡によって撮影し、組織学的解析を行った。

実験結果と考察

マウス胎齢 12.5 日(E12.5)に DNE で Prox1 の発現が観察された。E14.5 以降では、Prox1 は DNE から HNE へ向けて低下していく勾配をもった発現パターンを示した。その後 DGC の細胞系譜において、Prox1 は 3 つの発現レベルをもつ分化段階が異なるヘテロな細胞集団を形成し、歯状回を形成していくことを明らかにした。一方、HPC の細胞系譜において、NeuroD の発現を始める未熟な神経細胞の段階で Prox1 の発現は消失し、Math2 の発現が開始することを観察した。成体アンモン角の CA1 領域 HPC に特異的な Ctip2 の発現は、NeuroD 陽性の時点で確認することができた。この観察結果は、アンモン角の中での領域分けは HPC が前駆細胞から分化した段階で確定していることを示唆している。さらに発生を追って DGC と HPC の細胞系譜を観察したところ、出生前後の海馬体形成領域において 2 つの細胞系譜は混在しながら移動している事が明らかになり、両者が混在する領域を”complex migratory zone (CMZ)”と命名した。CMZ では DGC 前駆細胞は接線方向へ移動するが、HPC は Math2 発現レベルが増加し、細胞分化が進むに従い放射方向軸に沿うように移動の向きを変えて、アンモン角 CA3 領域の細胞層を形成していくと考えられる。DGC 系譜の Sox2/Pax6 陽性細胞は胎生期後期 (E16.5)から生後初期 (生後 10 日齢) までの歯状回形成領域の外周により多く分布するが、歯状回の層形成が進むにつれ将来の SGZ に局在していく過程を明らかにすることができた。本研究では、歯状回、アンモン角の CA1 領域、CA3 領域の細胞に特異的に発現する分子と分化段階を示す分子の発現を手がかりとし、胎生期から生後にかけての海馬体の形態形成機構を明らかにした。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 The spatiotemporal localization pattern of progenitors and their progenies in the developing hippocampal formation（神経前駆細胞と神経細胞の分布から示唆される海馬体形態形成機構）

所属専攻・分野名 医科学専攻・発生発達神経科学分野

氏名 杉山 拓

海馬体はアンモン角と歯状回から構成され、主に記憶と学習に関与する。海馬体の各領域内の主要細胞である海馬錐体細胞(HPC)と歯状回顆粒細胞(DGC)は、それぞれ胎生期終脳内側部の歯状回神経上皮と海馬神経上皮に由来する。大部分の中枢神経系において神経細胞の産生は胎生期に完了するが、DGC 産生は主に生後であり、さらに歯状回は生涯にわたって新たな DGC を生み出す能力（成体神経新生）を有している。しかしながら、(1)胎生期から生後初期において、DGC 前駆細胞は増殖能を維持した状態で歯状回神経上皮から将来の歯状回領域まで移動すること、(2)アンモン角 CA3 領域と歯状回を構成する 2 つの細胞系譜は隣接した神経上皮から産生され、移動経路が近接していることによって、アンモン角および歯状回の形態形成過程の組織学的観察は困難であった。

本学位論文では、前半部分で興奮性ニューロンの分化段階を示す分子マーカー群（Pax6/Sox2→Tbr2→NeuroD）の発現パターンを免疫組織学的手法によって調べ、DGC 前駆細胞の分化段階と形態形成途上の組織内での局在との関係を明らかにした。後半部分では、成体および胎生期海馬体において DGC と HPC 細胞系譜は、それぞれ Prox1 と Math2 の発現によって同定可能なことを見出した。非常に興味深いことに、移動中の DGC 前駆細胞および CA3-HPC は一次的に混在していた。2つの異なった細胞系譜が混じり合うという知見は全く新規の発見である。

生後の歯状回において新たな増殖領域を見出したこと、さらに CA3-HPC と DGC 前駆細胞が混在しながら形態形成が進行することを明らかにしたこと、また、正常な海馬体の発生のこれまでにない詳細な記載を行ったことは各審査員に高く評価された。

本学位論文前半部分の内容はすでに Developmental Dynamics (Vol. 242 Issue 12)に掲載され、後半部分の研究はすでに投稿直前の状態にある。成体の海馬体がどのように機能するのかを調べた研究は数多あるが、それに比べて海馬体発生過程についての知見は非常に少ない。海馬体の形態形成を詳細に記述した本研究は重要な知見を提供するものと言える。本研究は今後の発生・発達期海馬体研究に新たな道筋を示す。よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。